MULTIPLICATION DES VIRUS

PLAN

- **Introduction**
- **Relation virus – cellule**
- **Les étapes du cycle de multiplication virale**

  Attachement

  Pénétration

  Décapsidation

  Expression et réplication du génome viral

  Assemblage et maturation

  Libération

INTRODUCTION :

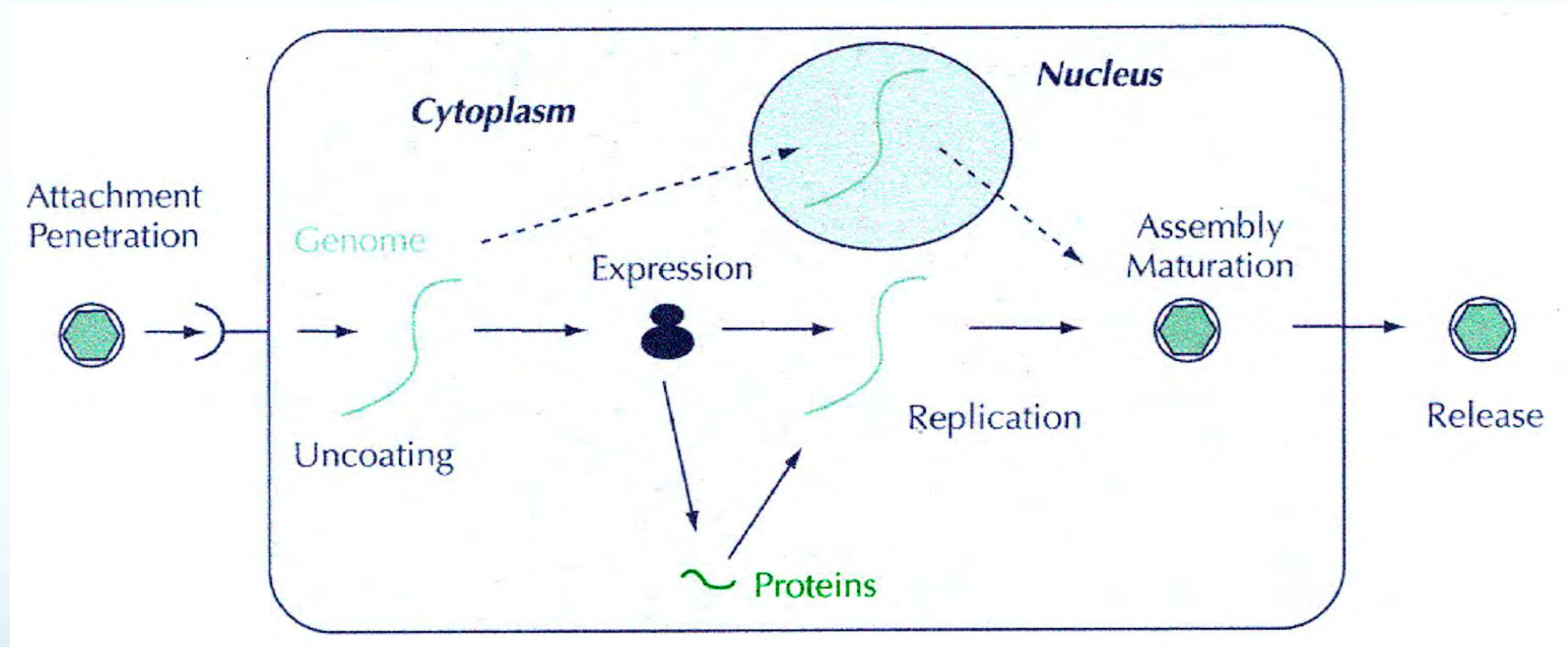
- **Les virus** sont des parasites intracellulaires stricts, ils ne peuvent se **multiplier** qu'à l'intérieur d'une cellule-hôte en détournant la machinerie cellulaire à leur profit.
- La connaissance des différentes étapes du **cycle** de multiplication virale représente un outil précieux pour comprendre la pathogenèse des infections virales et pour le développement de molécules antivirales.
- D'autre part, l'étude du cycle de **réplication viral** a permis d'améliorer nos connaissances en biologie cellulaire

RELATION VIRUS - CELLULE :

- La sensibilité d'une cellule pour un virus définit sa capacité à pouvoir être infectée par un virus donné, et l'infection de cellules **sensibles** peut être de trois types:
- **L'infection productive :** se déroule au sein d'une cellule **permissive** et se caractérise par l'expression de l'ensemble du programme génétique du virus, aboutissant à la production de nouvelles particules virales infectieuses.
- **L'infection abortive:** elle n'aboutit pas à la production de nouvelles particules virales infectieuses, soit parce que la cellule est non permissive, soit que le virus est défectif.
- **L'infection latente :** se caractérise par une expression restreinte des gènes viraux dans des cellules transitoirement non permissives.

LES ETAPES DU CYCLE DE MULTIPLICATION VIRALE AU COURS D'UNE INFECTION PRODUCTIVE :

- La durée du cycle viral peut varier d'un virus à l'autre en fonction de la taille du génome et de la complexité du cycle : 4 à 8 heures pour le **poliovirus**, plus de 40 heures pour les **Herpesviridae.**
- La réplication virale peut être divisée arbitrairement en **huit étapes.**


Cytoplasm
Nucleus
Attachment
Penetration
Genome
Expression
Assembly
Maturation
Uncoating
Replication
Release
Proteins

1/ ATTACHEMENT OU ADSORPTION DU VIRUS:

- La première étape du cycle de multiplication consiste en **l'attachement** du virus à la surface cellulaire. Cette fixation résulte de l’interaction entre un **ligand** viral (anti-récepteur) et un **récepteur cellulaire** par le biais d’une attraction électrostatique entre les charges électriques.
- Ces récepteurs peuvent être des protéines (glycoprotéines) ou des résidus carbohydrates présents sur des glycoprotéines ou des glycolipides.

- Certains virus complexes (poxvirus, herpesvirus) utilisent plus d'un récepteur, et ont donc plusieurs alternatives pour entrer dans une cellule. Inversement, des virus différents comme les coxsackievirus et les adénovirus peuvent se fixer sur un même récepteur appartenant à la famille des intégrines.
- Si le virus ne pénètre pas dans la cellule, il peut être élué de la surface cellulaire. Certains virus possèdent des mécanismes spécifiques de détachement, c'est l'exemple de la neuraminidase du virus grippal.

- Généralement, l'expression (ou l'absence) de récepteurs à la surface cellulaire détermine largement le tropisme d'un virus.
- Pour certains virus (HIV par exemple), cette reconnaissance ligand-récepteur n'est pas suffisante pour l'entrée dans la cellule hôte. D'autres molécules de surface sont nécessaires; **les corécepteurs**. Dans le cas du HIV, il s'agit notamment des récepteurs de chimiokines, CXCR4 et CCR5. Selon le corécepteur qu'ils utilisent, les virus sont appelés R5 (utilisation de CCR5), X4 (utilisation de CXCR4) ou R5X4 (utilisation de CCR5 et CXCR4).

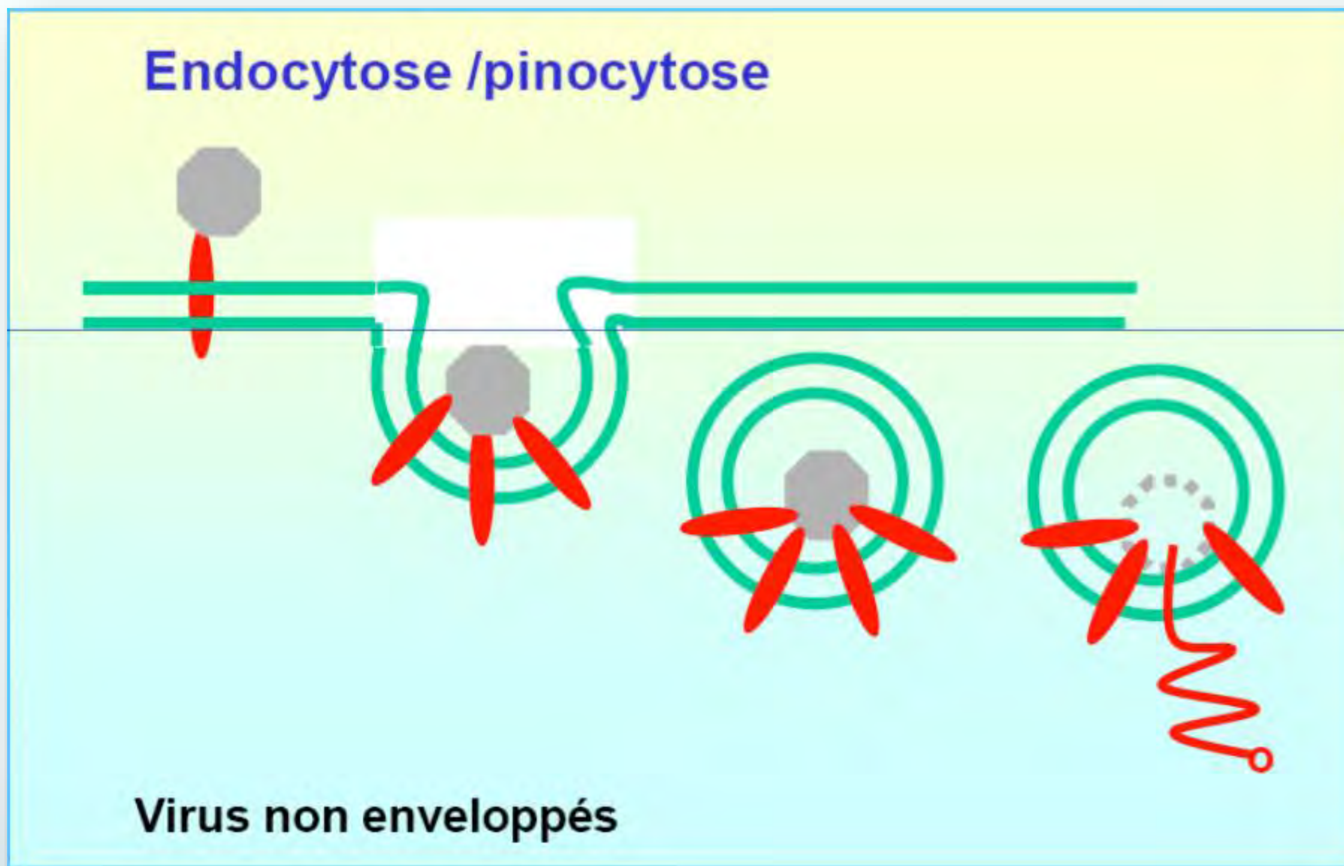
2/ PÉNÉTRATION:

- Suite à l'interaction avec son récepteur, le virus doit **pénétrer** à l'intérieur de la cellule. Contrairement à l'attachement, la pénétration est généralement un processus **énergie-dépendant**; c'est pourquoi, la cellule doit être métaboliquement active pour que le phénomène ait lieu. **Trois** mécanismes principaux sont évoqués :

2a- L'endocytose :

- C'est probablement le mécanisme le plus courant pour pénétrer dans la cellule. Concerne aussi bien les virus enveloppés que non-enveloppés.
- L'interaction entre le récepteur et le ligand déclenche **l'internalisation** du virus via le schéma classique d'**endocytose** par formation de puits de clathrine à la surface cellulaire puis , d'une vésicule, **l'endosome**. Une acidification du virus au sein de l'endosome est induite par "une pompe à protons", qui modifie la conformation des protéines virales d'attachement (hémagglutinine pour influenza A).

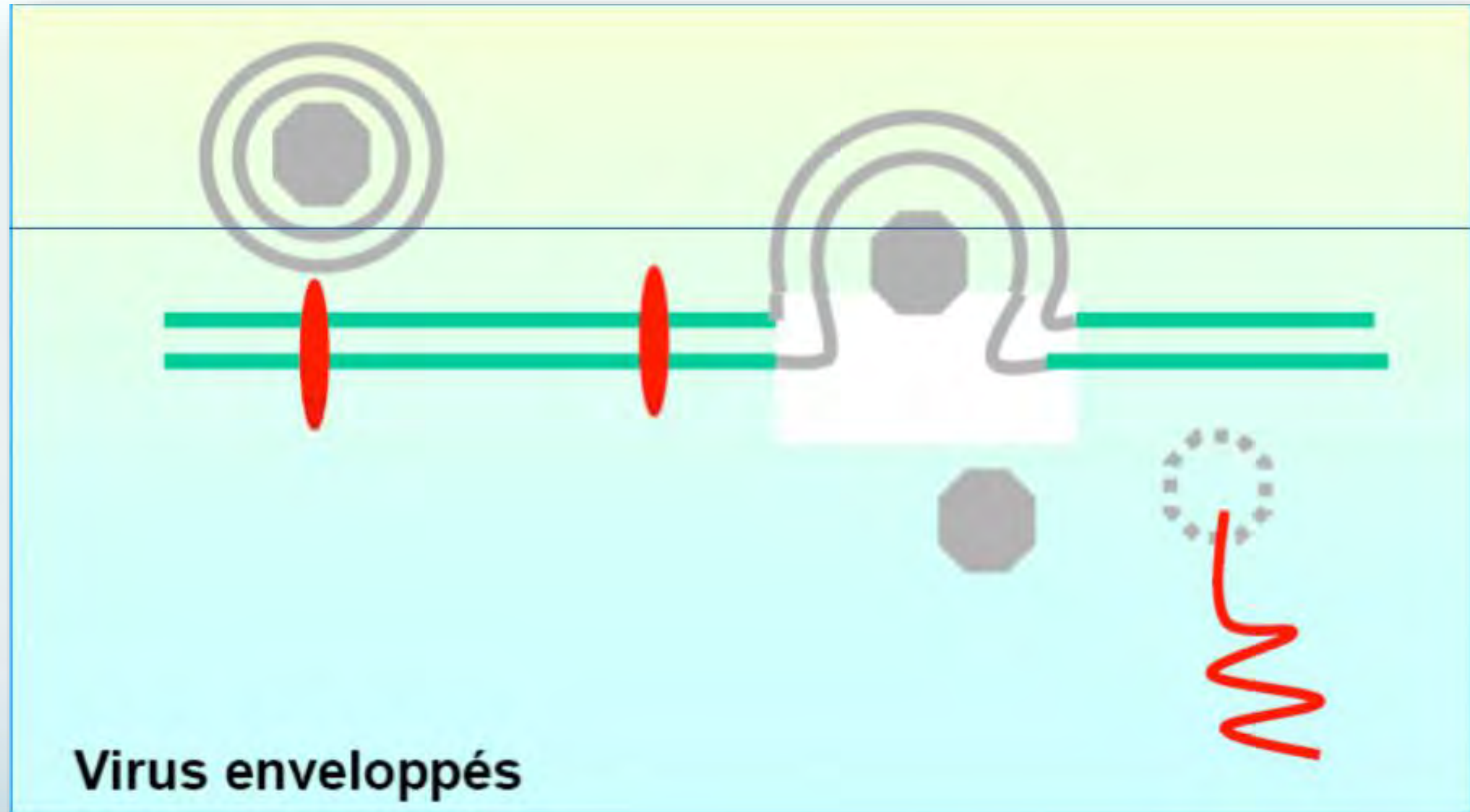
- Ces modifications exposent des régions protéiques hydrophobes, normalement cachées, qui réagissent avec les lipides de la membrane de l'endosome. Il s'ensuit une **fusion** des membranes et une libération de la **nucléocapside** dans le cytosol. Pour l'adénovirus (virus nu), l'endosome se disloque très rapidement sous l'influence d'une baisse du pH, libérant des complexes ADN-protéines.

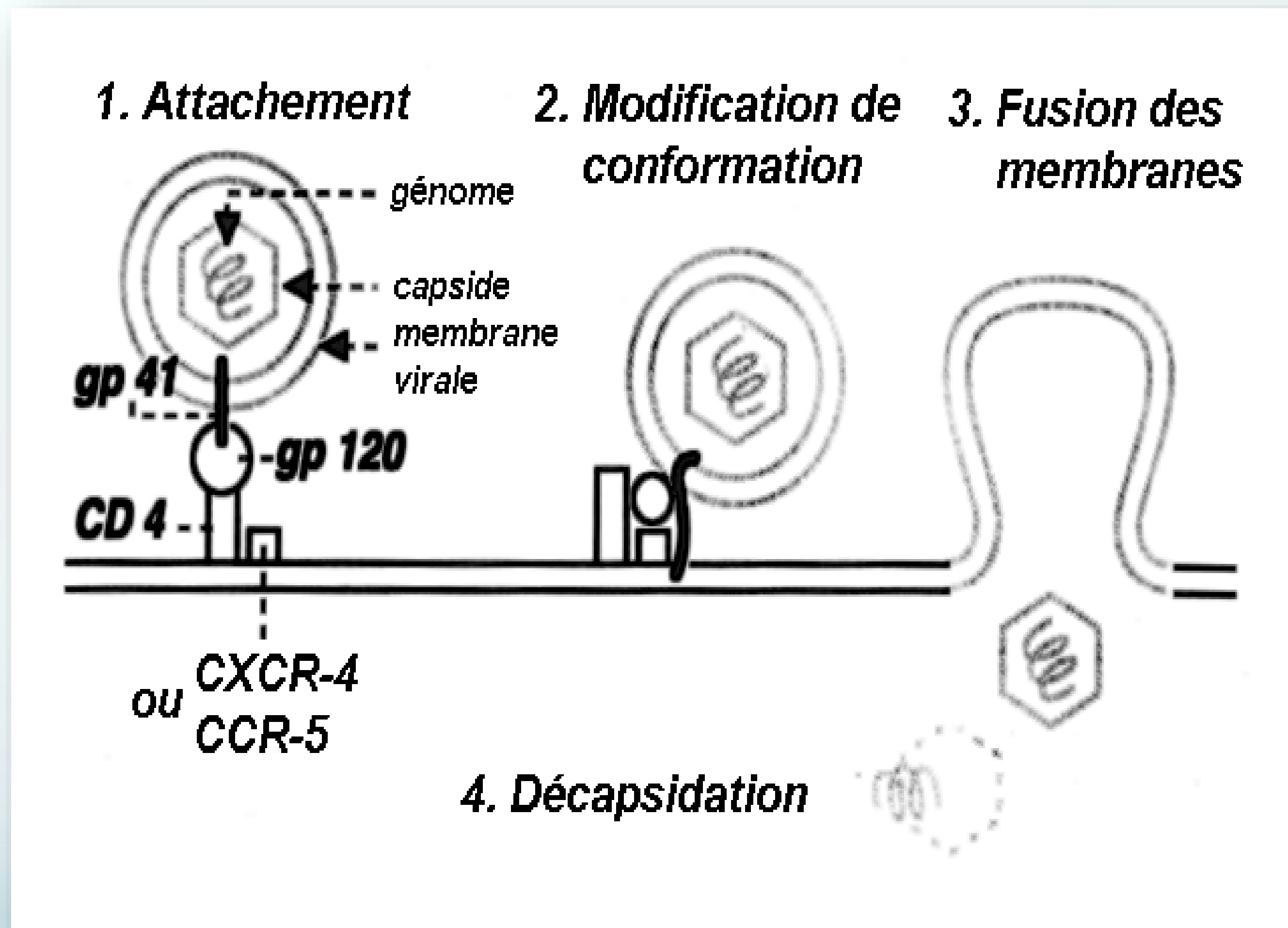

Endocytose /pinocytose
Virus non enveloppés



2b- La fusion :

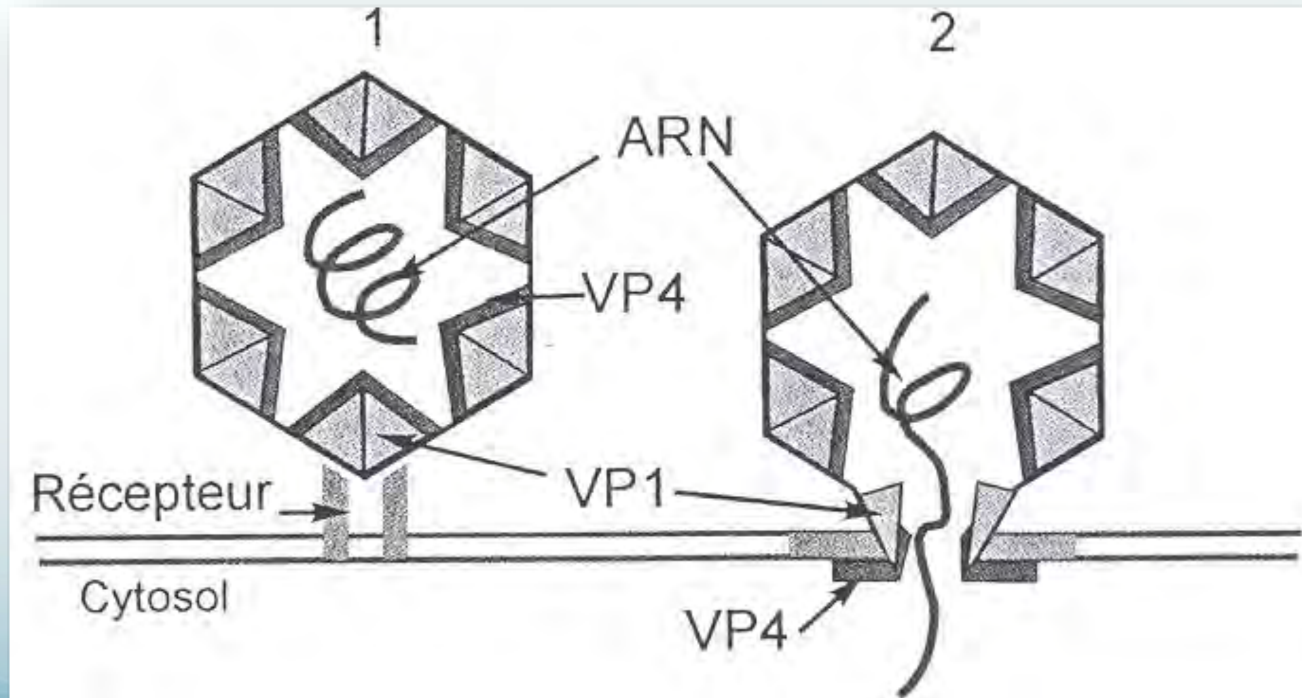
Ce processus concerne uniquement les **virus enveloppés.** La fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cytoplasmique, soit directement à la surface cellulaire ou après endocytose, nécessite la présence d'une protéine spécifique de fusion au niveau de l'enveloppe virale (exemple de l'hémagglutinine du virus influenza). Ainsi cette fusion aboutit à la libération de la capside virale dans le cytoplasme.


Virus enveloppés


1. Attachement
2. Modification de conformation
3. Fusion des membranes
génome
capside
membrane virale
gp 41
gp 120
CD 4
ou CXCR-4
CCR-5
4. Décapsidation

2c- Le transfert :

- Un troisième mécanisme, beaucoup moins courant, le transfert du matériel viral à travers la membrane cellulaire, concerne les *Picornaviridae*



3/ DÉCAPSIDATION :

- La décapsidation définit l'étape au cours de la quelle le génome et la capside sont dissociés, ce qui aboutit à la libération du **génome viral** sous une forme sous laquelle il pourra être exprimé puis répliqué.
- Le processus de décapsidation ne répond pas à un modèle unique. Elle peut commencer lors de l'attachement au récepteur cellulaire, avoir lieu en même temps que la pénétration dans la cellule ou plus tardivement. Elle peut s'effectuer en une ou plusieurs étapes, être totale ou partielle (rotavirus).

4- Expression et réplication des génomes viraux

- La stratégie de réplication de chaque virus dépend de la nature de son matériel génétique. Ainsi, les virus peuvent être divisés en sept groupes

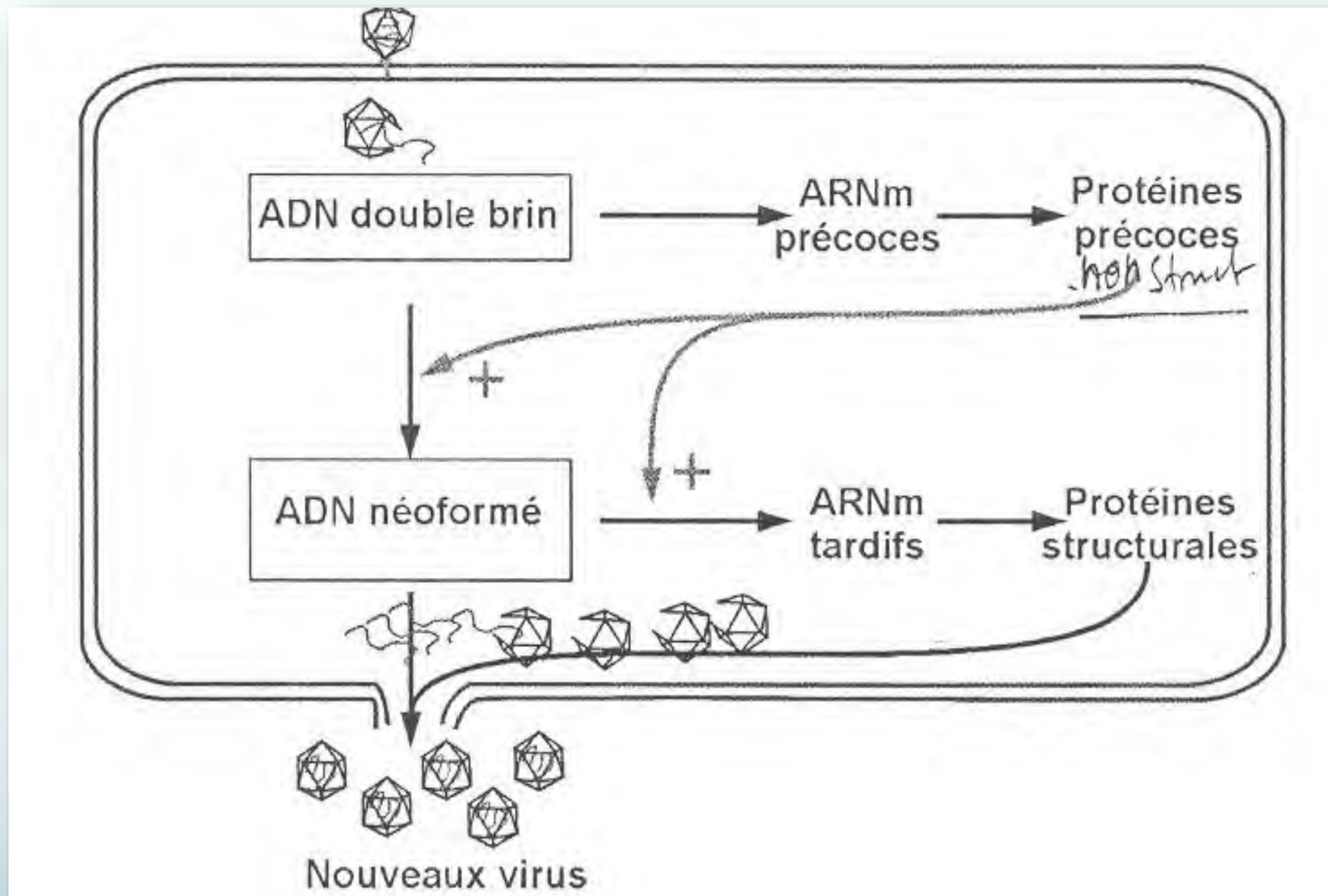
4.1- Les Virus à ADNdb (ADN double brin ou bicaténaire) :

- Les Papillomaviridae, Polyomaviridae, Adenoviridae et Herpesviridae se multiplient dans le **noyau** et leur réplication est relativement dépendante de facteurs cellulaires. Par contre les Poxviridae se multiplient dans le **cytoplasme**, ils possèdent la plupart des facteurs nécessaires à leurs synthèses et sont donc largement indépendant de la machinerie cellulaire.

- Le cycle infectieux des virus à ADNdb peut être subdivisé en trois phases : une phase précoce, et une phase tardive qui survient après la réplication de l’ADN viral
- **La phase précoce**: où une partie du génome viral est transcrite en ARNm dits précoces. Ceux ci sont traduits en protéines non structurales nécessaires à la réplication de l'ADN viral et au contrôle de l'expression des gènes.

- **Réplication de l’ADN viral**: les virus simples comme les papillomavirus utilisent de nombreuses protéines cellulaires pour leur réplication. D'autres comme les Herpesviridae synthétisent plusieurs protéines spécifiques de la réplication de leur ADN. Celles-ci peuvent être la **cible d'antiviraux**, exemples: l'aciclovir inhibe l'ADN polymérase du HSV et le ganciclovir inhibe celle du CMV.

- **La phase tardive**: où les ADNs néoformés vont servir de matrices pour une deuxième transcription, aboutissant à la formation d’ARNm tardifs qui seront traduits en protéines de structure (capside, enveloppe).


ADN double brin
ARNm précoces
Protéines précoces
non struct
+
ADN néoformé
+
ARNm tardifs
Protéines structurales
Nouveaux virus

4.2- Les Virus à ADNsb (ADN simple brin ou monocaténaire):

- Ce groupe est représenté par les Parvoviridae, leur réplication est **nucléaire** et **dépendante** de la cellule hôte. Certains ont une multiplication autonome (Erythrovirus dont le parvovirus B19), d'autres sont défectifs (Dependovirus) et ont besoin de la présence d'un virus auxiliaire qui peut être un adénovirus ou un herpès virus.

- La multiplication de ces virus nécessite la formation d'un ADNdb intermédiaire qui sert de matrice pour la synthèse de la progéniture ADNsb.

4.3 - Les virus à ARN + (ARN de polarité positive):

- Ce sont des virus dont l'ARN génomique est codant, ex: les picornavirus.
- L'ARN viral est **directement** traduit en une polyprotéine, celle-ci est clivée par des protéases en plusieurs protéines (transcriptase,…). Ensuite il y'a synthèse d'un brin d'ARN négatif complémentaire de l'ARN viral grâce à l'**ARN polymérase ARN dépendante** (transcriptase virale). Le brin négatif néo synthétisé sert de matrice à la transcriptase pour la synthèse de nombreux brins positifs. Enfin ces derniers peuvent à leur tour être traduits ou servir d'ARNs génomiques.

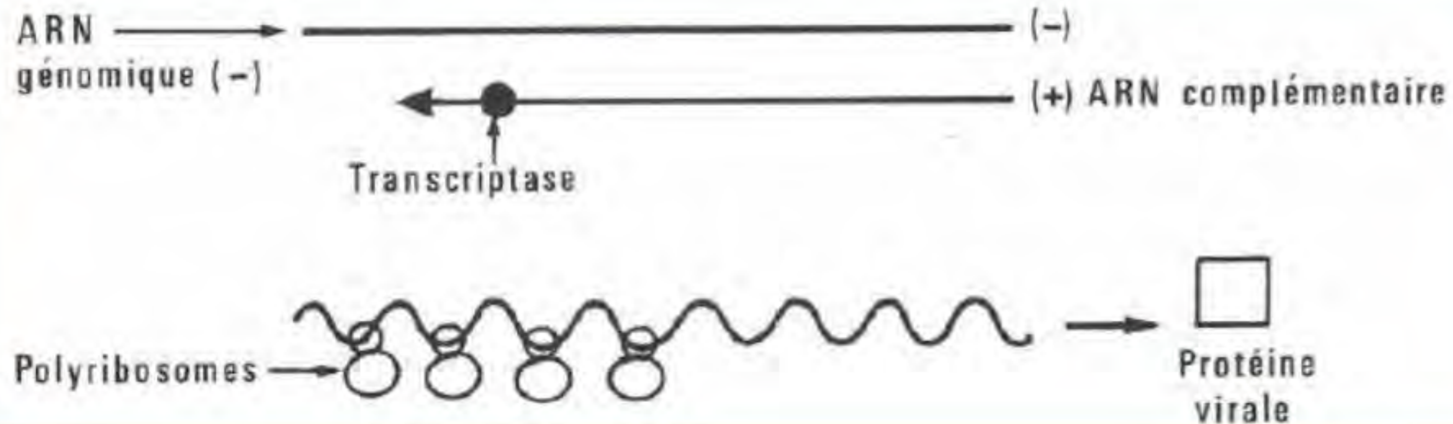
4.4- Les virus à ARN - (ARN de polarité négative):
l'ARN est non infectieux

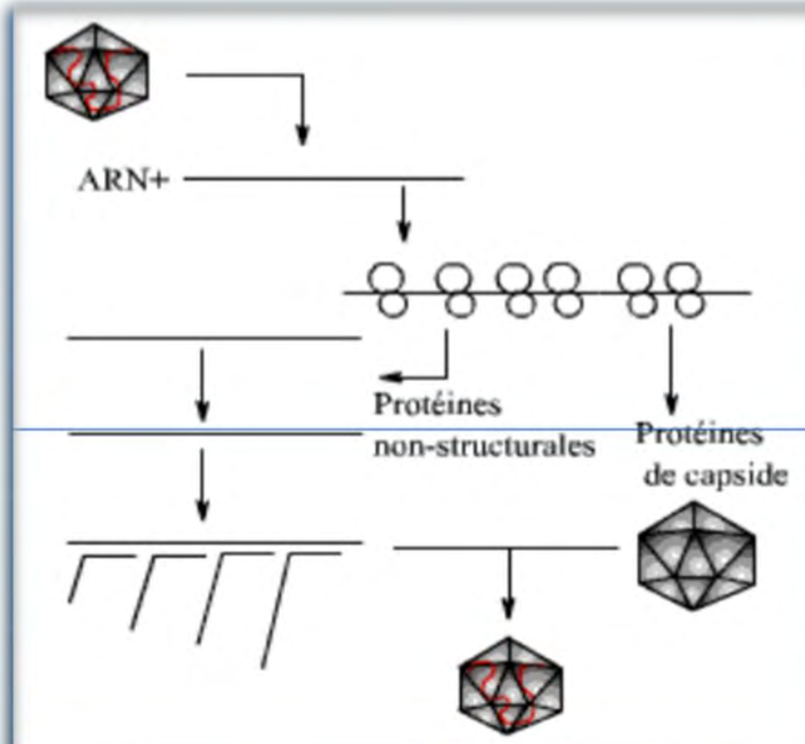
- Les génomes de ces virus peuvent être divisés en deux types: génomes **segmentés** (Orthomyxoviridae,Bunyaviridae) et **non segmentés** (Paramyxoviridae,..).

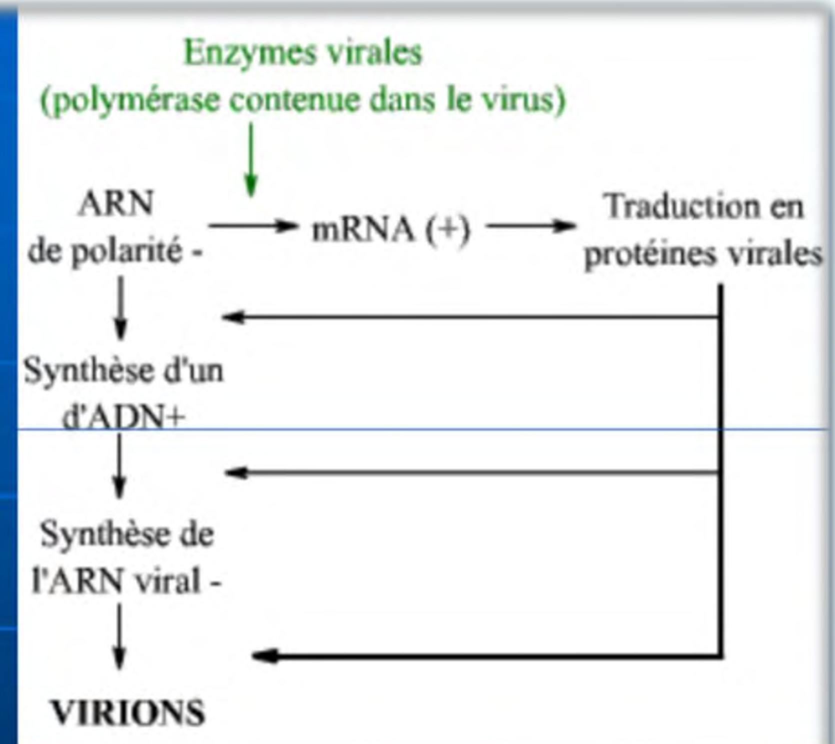
- La première étape de leur réplication est la transcription d'ARN messagers à partir de l'ARN génomique (-), grâce à une **ARN polymérase ARN dépendante virionique** (transcriptase associée au virion) et dont la traduction va aboutir à la synthèse de protéines virales (transcriptase, protéine N,..). Ensuite il y a synthèse d'un ARN (+) complémentaire de la totalité du brin (-). Ce brin (+) sert à son tour de matrice pour la synthèse de nouveaux ARN(-) génomiques.



ex : virus de la poliomyélite







Virus à ARN (+): Poliovirus

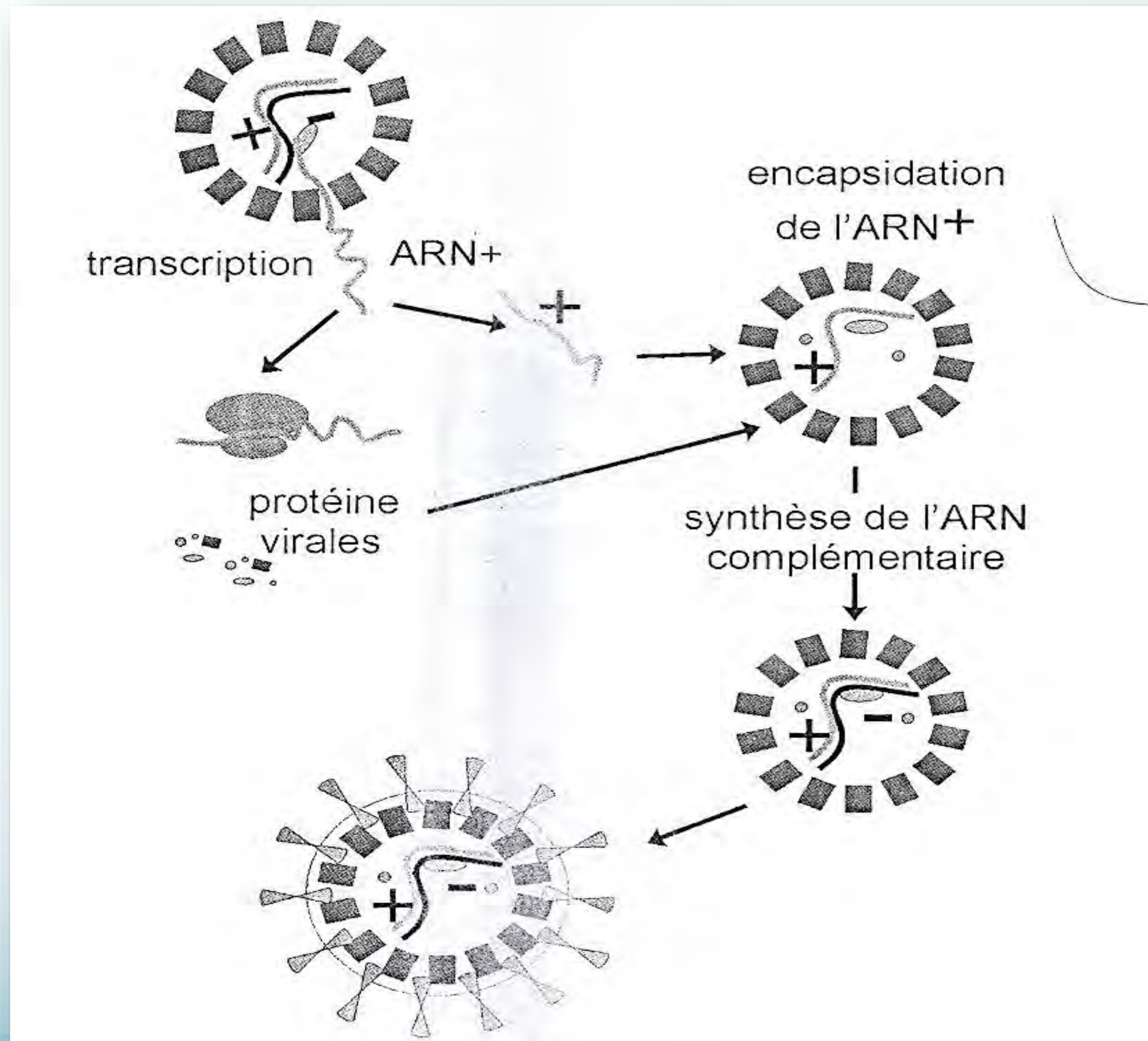
Virus à ARN (-): Orthomyxovirus et Paramyxovirus

4.5- les virus à ARNdb ou ARN bicaténaire

- Cette classe est représentée par les Réoviridae (rotavirus,..), ils ont un génome **segmenté**. Les ARN génomiques étant bicaténaires, le brin (+) ne peut être traduit en protéines par la cellule.

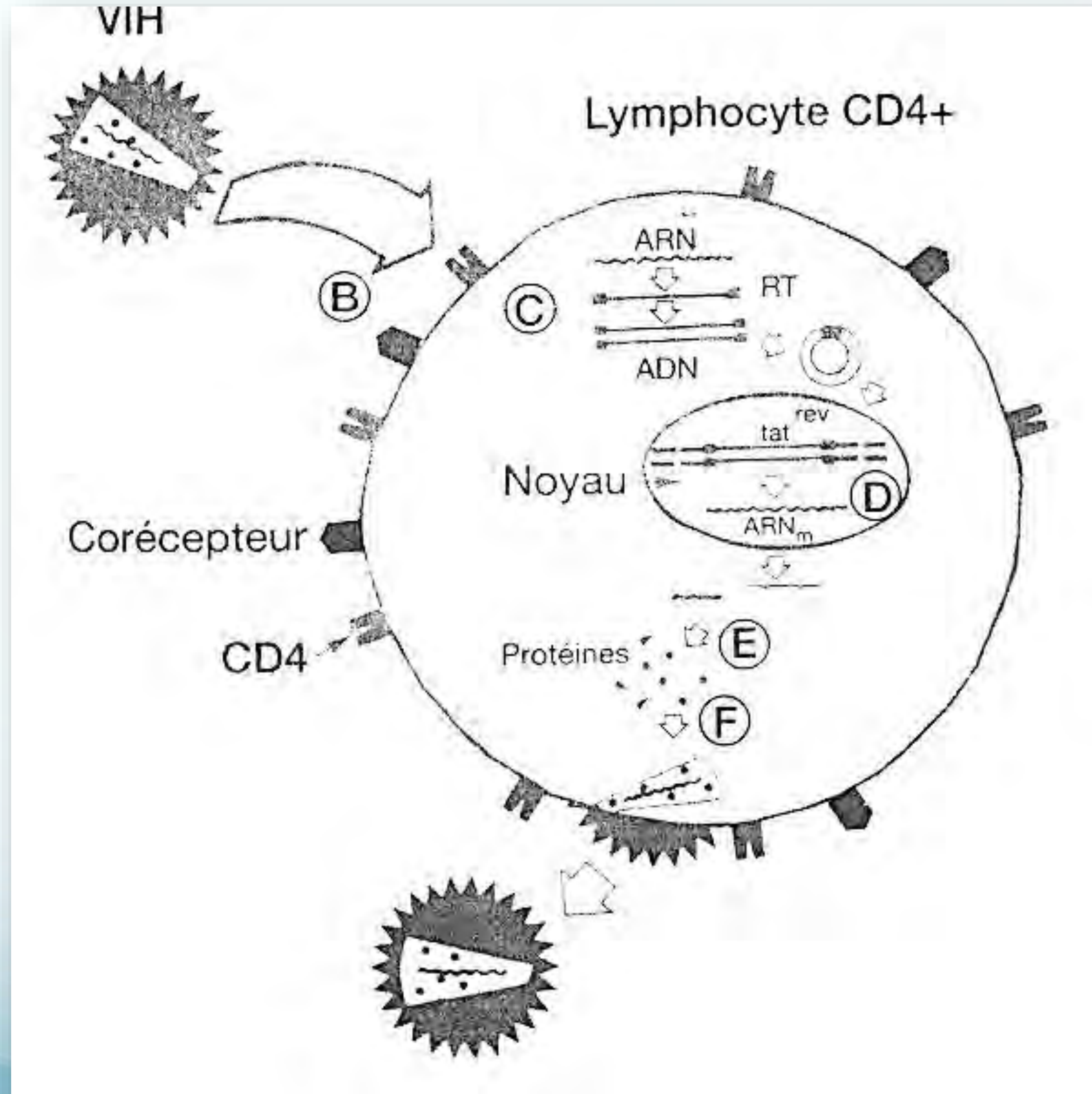
- A la phase précoce de l'infection, il y a transcription d'un ARNm à partir du brin négatif de chaque segment du génome, grâce à **l'ARN polymérase ARN dépendante virionique** (transcriptase associée au virion). Cette transcription primaire a lieu à l'intérieur des particules virales partiellement décapsidées, et aboutit à la formation d'ARNm coiffés mais sans poly(A). Plus tardivement, une transcription secondaire va avoir lieu et donner naissance à des ARNm non coiffés et sans poly(A).

- Le génome est répliqué de façon **conservative** (chaque brin donne naissance à plusieurs brins, et non pas un pour un comme c'est le cas dans la réplication semi conservative).


transcription
ARN+
encapsidation
de l'ARN+
protéine
virales
synthèse de l'ARN
complémentaire

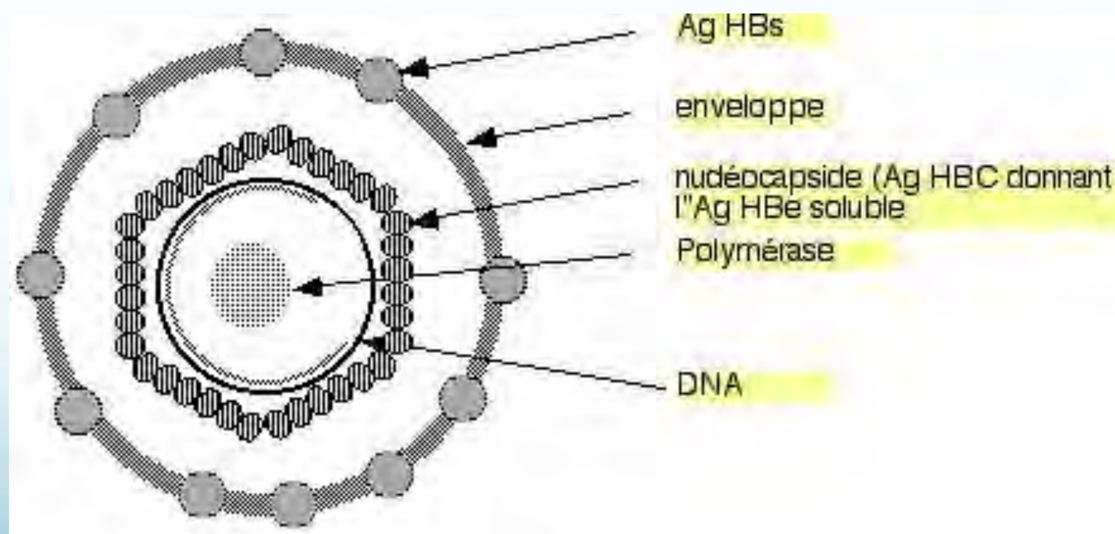
4.6- **Les rétrovirus**:

- Ils ont un génome diploïde, constitué de deux brins ARN + (exemple: HIV).
- L'ARN génomique est transcrit en un ADN complémentaire double brin grâce à l'**ADN polymérase ARN dépendante virionique** (Reverse Transcriptase associée au virion), au niveau du cytoplasme. S'ensuit l'import nucléaire et l'intégration de l'ADN (appelé proviral) au sein du génome de la cellule hôte grâce à **l'intégrase** virale. A partir de cet ADN proviral intégré, se font l'expression des gènes viraux et la réplication du virus.
- La transcriptase inverse du HIV est la cible de nombreuses molécules antirétrovirales, les inhibiteurs nucléosidiques (Zidovudine, Didanosine,..) et les inhibiteurs non nucléosidiques (Névirapine, Efavirenz,..).


VIH
Lymphocyte CD4+
ARN
RT
ADN
B
C
rev
tat
Noyau
D
ARNm
Corécepteur
CD4
Protéines
E
F

4.7- Virus à ADN utilisant une Reverse Transcriptase pour leur multiplication (exemple du HBV (virus de l'hépatite B, famille des Hepadnaviridae)

- Le génome du HBV est un ADN circulaire, partiellement double brin (un brin est complet, c'est le brin moins et l'autre brin plus est incomplet) et non fermé de manière covalente, cette molécule est appelée ADN-RC(relaxed circular).



- Après pénétration et libération de la nucléocapside dans le cytoplasme, une série d'événements font que l'ADN-RC se retrouve au niveau du noyau sous forme parfaitement double brin et fermée de manière covalente: **ADNccc**.
- Celui-ci sert de matrice pour la transcription des ARNs viraux qui sont exportés vers le cytoplasme où les protéines virales sont traduites. L'un de ces ARNs, **l'ARN prégénomique (ARNpg)**, et la polymérase virale sont recrutés dans des capsides formés par l'AgHBc, et l'ADN du brin (-) est alors synthétisé par **transcription inverse**.
- Il faut insister sur l'importance de l'ADNccc qui est au cœur du problème de la persistance virale et qui est responsable également du maintien durable des mutations générées pendant la réplication.
- La polymérase du HBV est la cible de nombreuses molécules antivirales: lamivudine, adéfovir, entécavir,..

5- ASSEMBLAGE ET MATURATION :

Cette étape correspond à l'assemblage des protéines de structure, l'incorporation du génome dans la procapside et la maturation des protéines par clivage protéolytique ou modification de conformation. Exemples :

- clivage de l'hémagglutinine du virus grippal par des protéases cellulaires
- clivage de la polyprotéine du poliovirus par des protéases virales ou cellulaires
- clivage des protéines gag et pol du HIV par une protéase virale. Cette dernière est la cible d'une classe d'antirétroviraux, les inhibiteurs de protéase (Indinavir, Nelfinavir,..)

6- LIBERATION :

- Les virions néoformés quittent la cellule par bourgeonnement pour les virus enveloppés ou par lyse cellulaire pour les virus nus (éclatement). C'est lors du bourgeonnement que les virus constituent leurs enveloppes, celui-ci s'effectue soit directement au niveau de la membrane plasmique (virus grippal, HIV,..), soit au niveau de la membrane interne du noyau (herpesvirus,..) ou au niveau de la membrane de l'appareil de Golgi (Coronaviridae,..).

- Les conséquences pour la cellule sont variables, certains virus enveloppés sont très cytolytiques alors que d'autres le sont peu ou pas. La libération des virus non enveloppés, au contraire, implique la lyse de la cellule.
- Les inhibiteurs de la neuraminidase du virus grippal (oseltamivir et zanamivir) empêchent la libération des virions néoformés.